

Klaus v. Bomhard

Feinbau und Passageverhalten
der Capillaren
im Subcommissuralorgan der Ratte



1974
—

Aus dem Institut für Histologie und experimentelle Biologie
der Universität München
Vorstände: Prof. Dr. med. R. Bachmann, Prof. Dr. med. R. Wetzstein

FEINBAU UND PASSAGEVERHALTEN DER CAPILLAREN IM
SUBCOMMISSURALORGAN DER RATTE

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfaßt und einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Ludwig Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Klaus v. Bomhard
aus
München
Jahr
1973



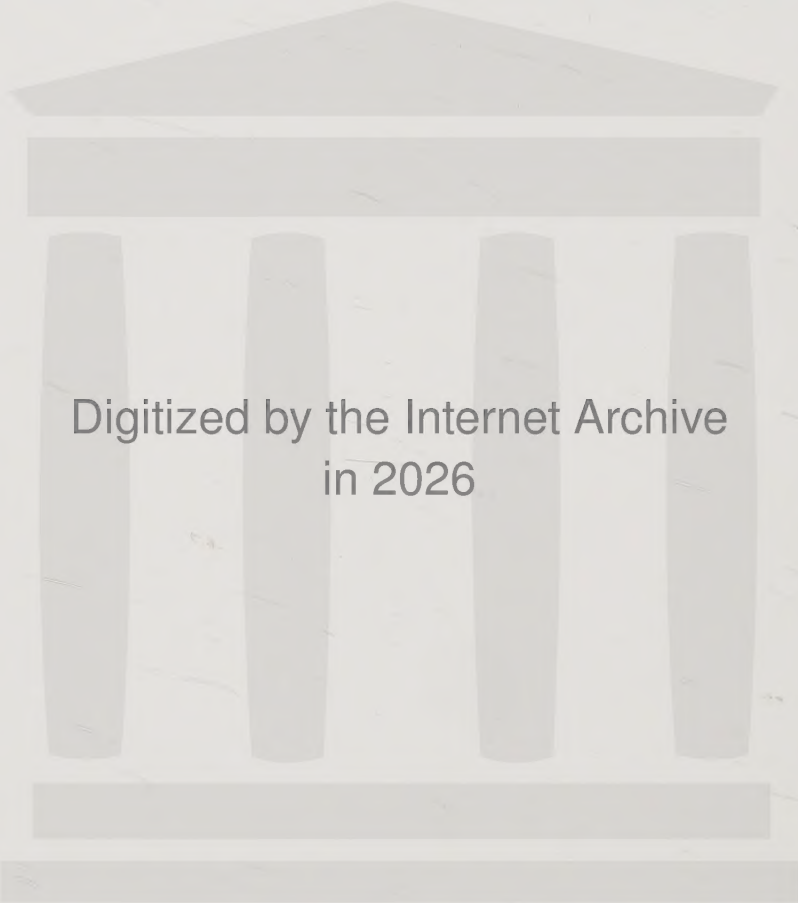
Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. med. R. Wetzstein

Mitberichterstatter: Prof. Dr. med. R. Bachmann

Dekan: Prof. Dr. med. W. Spann

Tag der mündlichen Prüfung: 12. März 1974



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41555210_0034

Feinbau und Passageverhalten der Capillaren im Subcommissuralorgan der Ratte*

K. von Bomhard, W. Köhl, I. Schinko und R. Wetzstein

Institut für Histologie und experimentelle Biologie der Universität München

Eingegangen am 20. März 1974

Ultrastructure and Vascular Permeability of the Capillaries in the Subcommissural Organ of Rats

Summary. The capillaries of the subcommissural organ (SCO) and their adjacent structures of 38 adult Sprague-Dawley rats and 6 adult Wistar rats were examined in the electron microscope after perfusion fixation. Acid mucopolysaccharides were shown by Alcian Blue and Ruthenium Red, glycoproteins were identified by the periodic acid-silver methenamine technique. Horseradish peroxidase (MRP) was used as a tracer for vascular permeability.

The subcommissural organ's capillaries are characterized by an unfenestrated, continuous endothelium, showing only few vesicles; the endothelium is surrounded by a single, continuous basal lamina. Adjacent to the capillaries wall there are "periodically structured bodies" (PSK), labyrinths of the basal lamina and irregularly arranged collagen fibrils. Glycoproteins are found in the basal lamina and within the intercellular clefts; in a few cases groups of parallel arranged, periodically banded linear structures are seen within or adjacent to the basal lamina. Acid mucopolysaccharides are found within the endocapillary layer of capillaries. It seems very likely that PSK represent an atypical arrangement of collagen fibrils. The formation of these structures is discussed.

Under normal conditions, MRP, after intravenous injection, does not enter the perivascular space surrounding the capillaries of the SCO. A blood-brain barrier exists at the level of the capillary endothelium. In a few Sprague-Dawley rats MRP seems to alter the permeability of the capillaries. Reaction product of MRP is found within endothelial vesicles and the adjacent structures. It appears that the basal lamina and the PSK are not involved in the barrier mechanism or regulation of transport. In Sprague-Dawley rats intravenous injection of MRP seems to alter the blood-brain barrier by release of endogenous biogenic amines associated with mast cell degranulation. This effect is not observed in Wistar rats.

Key words: Subcommissural organ — Periodically structured bodies — Vascular permeability — Rat.

Zusammenfassung. Die Capillaren des Subcommissuralorgans (SCO) und deren Umgebung wurden an 38 adulten Sprague-Dawley- und an 6 adulten Wistar-Ratten nach Perfusionsfixierung im Elektronenmikroskop untersucht. Saure Mucopolysaccharide wurden mit Alcianblau und Rutheniumrot, Glykoproteide mittels der Perjodsäure-Silbermethenamin-Reaktion nachgewiesen. Der Stofftransport in den Capillaren wurde mit Meerrettichperoxidase (MRP) als Tracer untersucht.

Die subcommissuralen Capillaren besitzen ein ungefenestertes, vesikelarmes Endothel, das einer einfachen, durchgehenden Basallamina aufsitzt. In der Umgebung der Capillaren finden sich neben periodisch strukturierten Körpern (PSK) vereinzelt Basallamina-Labyrinth und regellos angeordnete kollagene Mikrofibrillen. Mit der Perjodsäure-Silbermethenamin-Reaktion lassen sich Glykoproteide im Bereich der Basallamina und der nach außen anschließenden Interzellularspalten darstellen, vereinzelt auch — teils im Bereich der Basallamina,

* Die Untersuchung wurde mit Unterstützung durch den Sonderforschungsbereich 51 (Medizinische Molekularbiologie und Biochemie) der DFG ausgeführt. — Frau H. Asam danken wir für hervorragende technische Hilfe.

teils ihr eng angeschlossen — Gruppen parallel angeordneter, linearer Strukturen mit einem periodischen Streifenmuster. Saure Mucopolysaccharide sind nur in der lumenseitigen Glykokalyx des Capillarendothels nachweisbar. Der Aufbau der PSK aus Kollagenfilamenten erscheint sehr wahrscheinlich. Vermutungen zur Entstehung dieser hochgeordneten Strukturen werden vorgebracht.

Die Traceruntersuchungen ergeben, daß unter normalen Bedingungen in den subcommissuralen Capillaren eine Blut-Hirn-Schranke (BHS) für MRP besteht, die im Endothel lokalisiert ist. Bei einem Teil der Sprague-Dawley-Ratten ist die Barriere geschädigt und der Tracer gelangt über cytopemptische Vesikel in Basallamina und Gefäßumgebung. Der Basallamina und den PSK kommt in solchen Fällen keine besondere Schranken- oder Verteilerfunktion zu. Offenbar bewirkt bei manchen Sprague-Dawley-Ratten die MRP-Injektion über die Freisetzung von endogenen biogenen Aminen aus Mastzellen eine Schädigung der BHS, was bei Wistar-Ratten nicht eintritt.

Einleitung

Wie Wislocki und King (1936) nach Vitalfärbung mit sauren Farbstoffen lichtmikroskopisch nachgewiesen haben, existieren im Gehirn umschriebene Bezirke, in denen keine Blut-Hirn-Schranke (BHS) ausgebildet ist. Dieser Befund wurde durch weitere licht- und elektronenmikroskopische Untersuchungen von Dempsey und Wislocki (1955), van Breemen und Clemente (1955), Weindl (1967), Dempsey (1968), sowie Dretzki (1971) erweitert. Diese Autoren fanden, daß Markierungsstoffe, die oral verabreicht (Silberniträt im Trinkwasser) oder intravenös zugeführt wurden (Trypanblau, Myofer), die Gefäßbahn nur an solchen Capillaren verlassen, die mit einem bindegewebigen Perivaskulärraum versehen sind: bei der Neurohypophyse mit Infundibulum, der Epiphyse, dem Plexus chorioideus, dem Gefäßorgan der Lamina terminalis, dem Subfornikalorgan und der Area postrema. Mit Ausnahme des Plexus chorioideus gehören diese Gehirnbezirke zur Gruppe der circumventrikulären Organe (cvO).

Nach seiner Lage im Dach des 3. Ventrikels (am Eingang zum Aquaeductus cerebri) wird das Subcommissuralorgan (SCO) gleichfalls dieser Gruppe zugerechnet. Es unterscheidet sich jedoch in verschiedenen Merkmalen von den übrigen cvO, so auch im Passageverhalten und Bau seiner terminalen Gefäße: das SCO der Ratte wird mit Vitalfarbstoffen (Trypanblau) nicht angefärbt (Wislocki und Leduc, 1952); es besitzt also eine BHS im klassischen Sinn. An den subcommissuralen Capillaren adulter Ratten fanden Wetzstein *et al.* (1963) keine bindegewebigen Perivaskulärräume. Den Autoren fielen jedoch auf Schnittbildern in der Umgebung der Capillaren bis zu $1\ \mu\text{m}^2$ große Bezirke auf, die durch ein periodisches Streifenmuster gekennzeichnet waren. Diese periodisch strukturierten Körper (PSK) fanden sich in enger Beziehung zur Basallamina der Capillaren, auch dann, wenn sie in beträchtlicher Entfernung von Gefäßen im Hypendym lagen. Hingegen konnte keine gesetzmäßige Beziehung dieser Körper zu Zellen des Ependyms bzw. des Hypendyms nachgewiesen werden. Die Untersucher nahmen an, daß es sich bei den PSK um Bezirke einer stark aufgeweiteten Basallamina handelt, in denen Kollagenfilamente in einer Weise angeordnet sind, die von der des nativen Kollagens abweicht. Die Funktion dieser Strukturen ist unbekannt. Aus der perikapillären Lage und der Beziehung zur Basallamina erörterten die Autoren die Möglichkeit, daß die PSK einen begrenzten perivaskulären Diffusionsraum mit einer selektiv vermittelnden Funktion im Stoffaustausch zwischen Blutbahn und SCO darstellen könnten.

Ähnliche Erwägungen wurden an andere auffällige Bildungen der Basallamina geknüpft. So zeigt das Subfornikalorgan nur bei manchen Spezies (Ratte: Dempsey und Wislocki, 1955; Katze: Rohr, 1966; Hund: Andres, 1965) einen bindegewebigen Perivaskulärraum, beim Kaninchen (Rudert *et al.*, 1966) und der Maus (Schinko *et al.*, 1972) dagegen ausgedehnte Labyrinth der Basallamina. Ferner wurden in weiten Bereichen des Ventrikelsystems bei Kaninchen und Ratten gleichfalls ausgedehnte sub- und interependymale Basallamina-Labyrinth gefunden (Lit. bei Booz *et al.*, 1972), wobei auch hier die Bedeutung der Strukturen für einen Stoffaustausch zwischen Blut und umgebendem Gewebe zur Diskussion gestellt wurde.

Leonhardt (1967, 1968) hat an Kaninchen durch intravenöse Gabe von Pentamethylentetrazol (Cardiazol®) ein experimentelles Hirnödem erzeugt; mit Hilfe von intravenös zugeführten Markierungsstoffen (Evans-Blue, Myofer) stellte er fest, daß Veränderungen der Gefäßpermeabilität in verschiedenen Bereichen des Gehirns im wesentlichen von der Struktur der Capillaren abhängen, wobei der Anordnung der Basallamina ganz besondere Bedeutung zukommt.

Da die PSK im SCO der Ratte zweifellos eine Sonderform der perivaskulären Organisation darstellen, schien es uns wichtig, mit elektronenmikroskopisch-histochemischen Methoden und Anwendung des elektronenmikroskopisch nachweisbaren Tracers Meerrettichperoxidase (MRP) weiteren Aufschluß über die stoffliche Natur der PSK und vor allem über ihre funktionelle Bedeutung zu erlangen. — Eine vorläufige Mitteilung ging dieser Arbeit voraus (v. Bomhard *et al.*, 1973).

Material und Methoden

Präparatives Vorgehen. Verwendet wurden 38 Sprague-Dawley-Ratten (♂♂) und 6 Wistar-Ratten (♂♂) mit einem Gewicht von 250—350 g (P. Bäumler, Wolfratshausen b. München). In Chloralhydrat-Narkose (360 mg/kg Körpergewicht, intraperitoneal) Eröffnung des Abdomens, Präparation der Aorta abdominalis und der V. cava inf. Nach Heparinisierung (2500 I. E. Heparin Novo®, intraaortal) retrogrades Einführen eines Aortenkatheters (Portex, Länge 20 cm, Außendurchmesser 1,34 mm) ca. 6 cm nach cranial, breite Eröffnung der V. cava inf. Zu Beginn der Perfusion 1—2 min Vorspülung mit einer Standardlösung zur Organperfusion (Largiadèr, 1970) bei einem Druck von 150 cm H₂O und vollem Durchfluß, anschließend 20—30 minutige Perfusion (ca. 150 ml pro Tier) mit 2,5%iger Glutaraldehydlösung (Ladd Research Industries, Inc., Burlington, Vt.) in 0,1 M Cacodylatpuffer mit 4 % Dextran (nach Bohman und Maunsbach, 1970) (Osmolalität: ca. 500 mOsm), wobei der Druck nach 5 min auf 90 cm H₂O abgesenkt und der Durchfluß reduziert wurde.

Anschließend Präparation und Teilung des Gehirns durch einen Medianschnitt. Unter dem Stereomikroskop Präparation eines das halbe SCO enthaltenden Gewebsblöckchens. Auswaschen in der Pufferlösung; Nachfixierung in cacodylat- oder veronalacetatgepufferter 1%iger Osmiumtetroxidlösung. Blockkontrastierung mit Uranylacetat (Farquhar und Palade, 1965). Entwässern in der Alkoholreihe, Einbettung in Epon „812“ (Luft, 1961) über Propylenoxid. Frontalschnitte der phasenoptisch ausgesuchten Bezirke wurden auf einem LKB-Ultramikrotom „Ultratome“ mit Glas- oder Diamantmessern hergestellt. Nach Bedarf Schnittkontrastierung mit Uranylacetat und Bleicitrat (Reynolds, 1963). Untersuchung der Schnitte mit einem Siemens-Elektronenmikroskop „Elmiskop I“ bei 80 kV Strahlspannung.

Anwendung von Meerrettichperoxidase als Markierungsstoff. Intravenöse Injektion von 50 mg Meerrettichperoxidase (MRP) (Typ II der Sigma Chemical Co., St. Louis, Miss.) in 1 ml Ringelösung in die V. femoralis. Beginn der Perfusionsfixierung nach einem Intervall von 5, 15 bzw. 30 min. Anschließend Perfusion mit 0,1 M Cacodylatpuffer, 30 min, und mit

Inkubationsmedium (nach Graham und Karnovsky, 1966) ohne H_2O_2 , 30 min. Nach der geschilderten Präparation weitere Inkubation von maximal 1 mm dicken Gewebsblöckchen in Medium mit H_2O_2 , 60 min. Gegenüber der Anwendung des Tissue-Choppers bot die zweistufige Inkubation (Perfusion und Immersion) im Block den Vorteil, daß die im Hypendym gelegenen Capillaren auf den Dünnschnitten einwandfrei aufgefunden und in der stets gleichen Orientierung (Frontalschnitte) in ihrer Beziehung zur Umgebung studiert werden konnten.

Kontrollen: 1. Inkubation ohne H_2O_2 ; 2. Inkubation ohne Injektion von MRP; 3. Mitinkubation bekannt positiv reagierenden Gewebes, z.B. Plexus chorioideus; 4. Prüfung des histaminfreisetzungsfördernden Effektes der MRP (Cotran und Karnovsky, 1967) durch a) Paralleluntersuchungen an Wistar-Ratten; b) intravenöse Injektion von Histamin in verschiedenen Dosierungen ($5 \mu g$ Histamin in 0,1 ml Aqua bidest. bzw. $600 \mu g$ Histamin in 0,3 ml Aqua bidest.) vor der MRP-Injektion.

Histochemischer Nachweis von sauren Mucopolysacchariden und Glykoproteiden. 1. Saure Mucopolysaccharide: a) Alcianblau 8 GX (ICI, England) (Behnke und Zandler, 1970); b) Rutheniumrot (Fluka AG., Buchs, Schweiz) in verschiedenen Versuchsanordnungen: Zusatz zur Fixierungslösung (1500 ppm), zum Puffer (800 ppm) und zur OsO_4 -Lösung (400 ppm) (Luft, 1971a, b).

2. Glykoproteide: Perjodsäure-Silbermethenamin-Reaktion (Rambourg, 1967).

Folgende auf Gefäße und deren Umgebung bezogene Abkürzungen gelten für sämtliche Abbildungen: *BL* Basallamina, *E* Endothel, *G* Gliazelle, *L* Lumen, *P* Pericyt, *PSK* periodisch strukturierter Körper.

Befunde

Morphologie der Capillaren und ihrer Umgebung

Die subcommissuralen Capillaren der Ratte sind mit einem geschlossenen, ungefensterten, vesikelarmen Endothel ausgekleidet, dessen Dicke außer in der breiteren Kernzone zwischen 100 und 300 nm schwankt. Die Zellen grenzen mit breit überlappenden Kontaktstellen aneinander. Die 150–200 Å breiten Interzellularfugen verlaufen meist über eine längere Strecke parallel zur Endotheloberfläche. Zum Lumen hin stülpen sich an den Kontaktstellen häufig fingerförmige Cytoplasmabezirke vor.

Das Endothel sitzt einer durchgehenden, einfachen, ca. 600 Å breiten Basallamina auf. In Duplikaturen dieser Basallamina eingebettet sehen wir an allen Capillaren Pericyten, deren Cytoplasma häufig ein deutlich aufgeweitetes endoplasmatisches Reticulum besitzt (Abb. 1). Einen aufgeweiteten Perivascularraum können wir nur ganz ausnahmsweise entdecken (s.S. 108).

Ein charakteristisches Merkmal an SCO-Capillaren der Ratte ist das Vorkommen von periodisch strukturierten Körpern, die meist eine enge Beziehung zur Basallamina der Capillaren erkennen lassen (Abb. 1). Diese Strukturen finden sich sowohl bei Sprague-Dawley- als auch bei Wistar-Ratten. Soweit wir beobachten können, sind sie streng auf die Capillaren des SCO begrenzt; an den Gefäßen des seitlich angrenzenden Hirngewebes können wir sie in keinem Fall entdecken.

Nach außen hin schließen sich der Basallamina Fortsätze der subcommissuralen Zellen (Ependym bzw. Hypendym) an, die manchmal zahlreiche Sekretsäckchen enthalten. Ebenso kommen Fortsätze von protoplasmatischen, gelegentlich auch filamentären Astrocyten vor. Vereinzelt finden sich zwischen gefäßnahen Zellen auch terminale Axonaufweitungen, die zahlreiche Vesikel von 200–400 Å Durchmesser enthalten können (Abb. 1); ein unmittelbarer Kontakt solcher neuronaler Fortsätze mit den Capillaren wird nicht beobachtet.

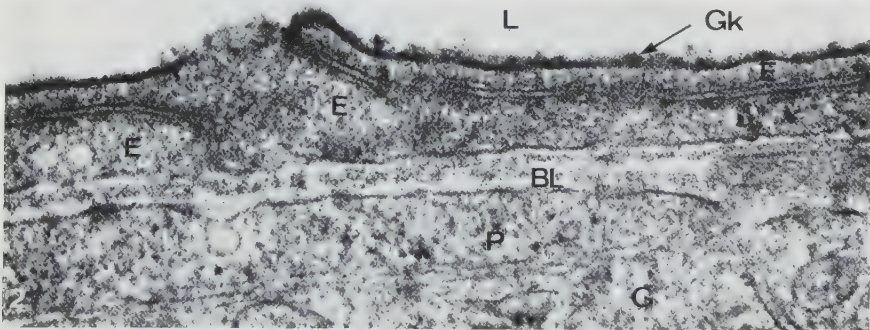
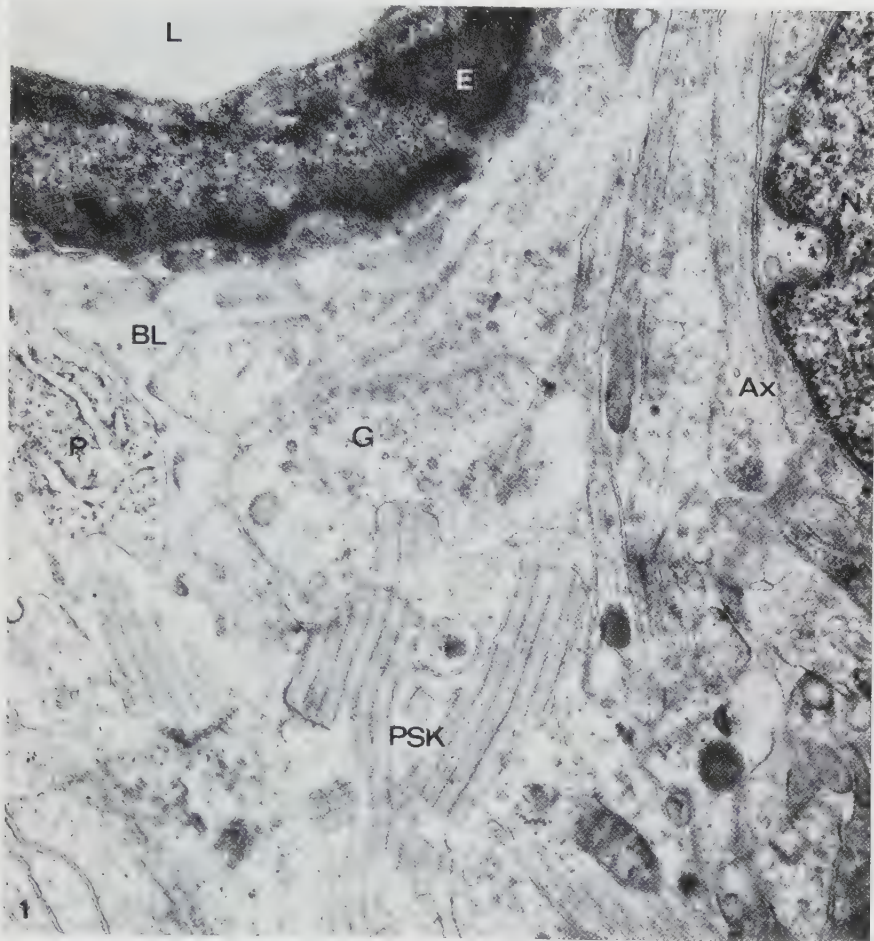


Abb. 1. Capillare im SCO der Ratte mit umgebenden Strukturen: Pericytenanschnitt, Verzweigung der Basallamina mit periodisch strukturierten Körpern, Anschnitte von Gliazellen, terminale Axonaufreibung (*Ax*), Anschnitt des Kerns einer ependymalen SCO-Zelle (*N*). Kontrastiert, 24000:1

Abb. 2. Kontaktstellen zwischen 3 Endothelzellen mit langausgedehnten Interzellularfugen. Nachweis der endocapillären Glykokalyx (*Gk*) durch Alcianblau. Kontrastiert, 60 000:1

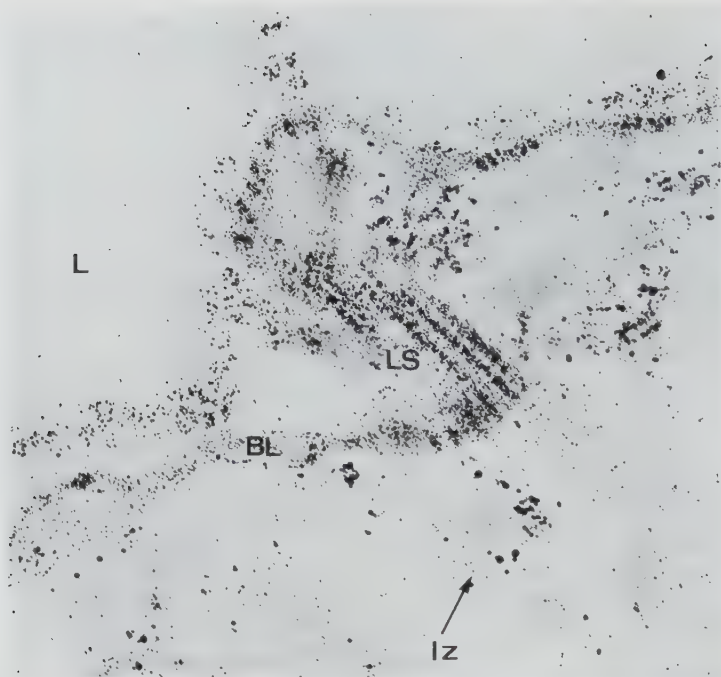


Abb. 3. Nachweis von Glykoproteiden im Bereich der Basallamina und (schwächer) in den Intercellularspalten der umgebenden Gliazellen (*Iz*) mit der Perjodsäure-Silbermethenamin-Reaktion. In einer Aufweitung der Basallamina stark positiv reagierende, parallel angeordnete lineare Strukturen mit periodischer Streifung (*LS*). Unkontrastiert. 40000:1

Vorkommen von sauren Mucopolysacchariden und Glykoproteiden

Mit Rutheniumrot bzw. Alcianblau läßt sich die endocapilläre Glykokalyx deutlich darstellen; sie überkleidet die lumenseitige Zellmembran vollständig, ist jedoch in den Interzellularfugen nicht nachweisbar (Abb. 2). Im Bereich der Basallamina und der PSK kann man, auch bei Kombination von Perfusionsfixierung (30 min) und Immersionsfixierung (bis zu 11 Std), saure Mucopolysaccharide nicht eindeutig nachweisen. Der Nachweis von Glykoproteiden gelingt in der Basallamina, etwas schwächer auch in den Intercellularspalten zwischen den Gliazellen. (Auf Kontrollschnitten, an denen keine Perjodsäure-Oxidation durchgeführt wurde, bleibt der Effekt aus.) Gelegentlich reagieren, teils innerhalb der Basallamina, teils eng an sie angeschlossen, Gruppen parallel angeordneter, linearer Strukturen mit periodischem Muster (Abb. 3).

Morphologische Sonderbefunde

Im gesamten Untersuchungsgut — unabhängig von Versuchsanordnung und Methode — finden wir bei 7 Tieren in der Capillarumgebung Profile von Mikrofibrillen, deren Breite zwischen 300 und 700 Å schwankt. In günstigen Fällen läßt sich eine periodische Querstreifung (Periode: 450—550 Å) ausmachen (Abb. 4a), die noch untergliedert sein kann (Abb. 4b). Solche Mikrofibrillen zeigen kein bevorzugtes Anordnungsmuster, sie überkreuzen sich teilweise regel-

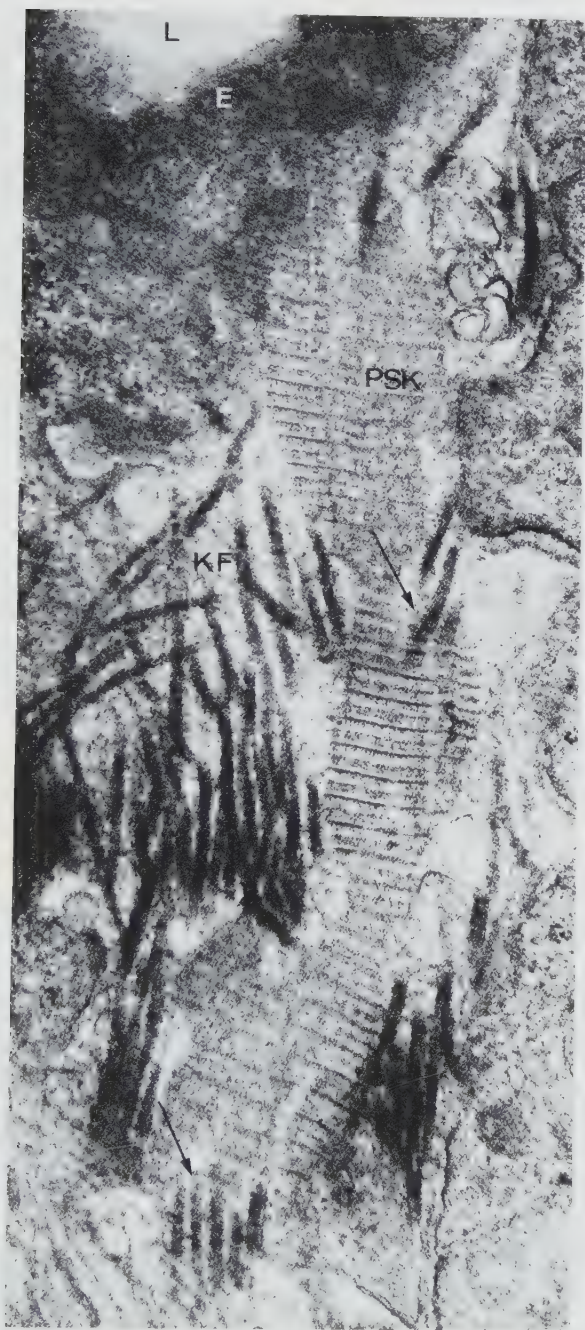


Abb. 4. a) In der Umgebung einer Capillare, in enger Nachbarschaft zu einem PSK, regellos angeordnete kollagene Mikrofibrillen (KF). \ Übergang von Mikrofibrillen in den PSK. Kontrastiert. 40 000 : 1

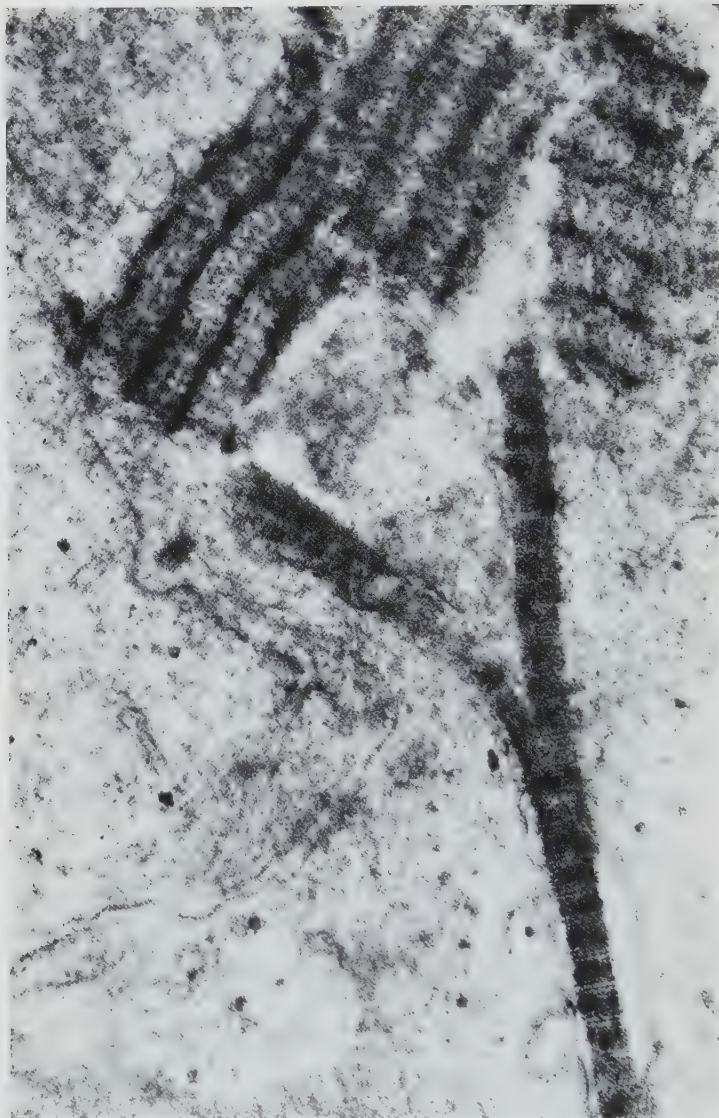


Abb. 4. b) Kollagene Mikrofibrille mit Unterstruktur der Periode in enger Beziehung zu einem PSK (in den Hauptlinien des PSK Einlagerung von Reaktionsprodukt der MRP). Kontrastiert. 80 000 : 1

los. In der Nähe von PSK hat man den Eindruck, daß manche Mikrofibrillen in diese Körper einstrahlen (Abb. 4a).

Bei einigen wenigen Tieren scheinen verzweigte Ausläufer der Basallamina (bis zu $5\ \mu$ weit) in das umliegende Gewebe zu ragen. Es läßt sich indessen aus Breite und Unterstruktur solcher Bildungen feststellen, daß es sich dabei um Aufaltungen der kontinuierlichen Basallamina handelt (Abb. 5). Sie stellen einen potentiellen Perivasculärraum dar.

Einen echten, aufgeweiteten Perivasculärraum finden wir nur bei 1 Tier (Abb. 6). Er ist von je einer Basallamina gegen das Endothel (bzw. den Pericyten)

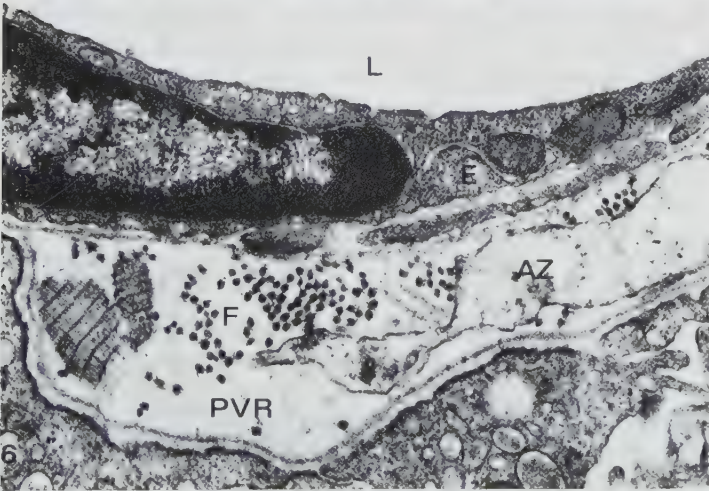
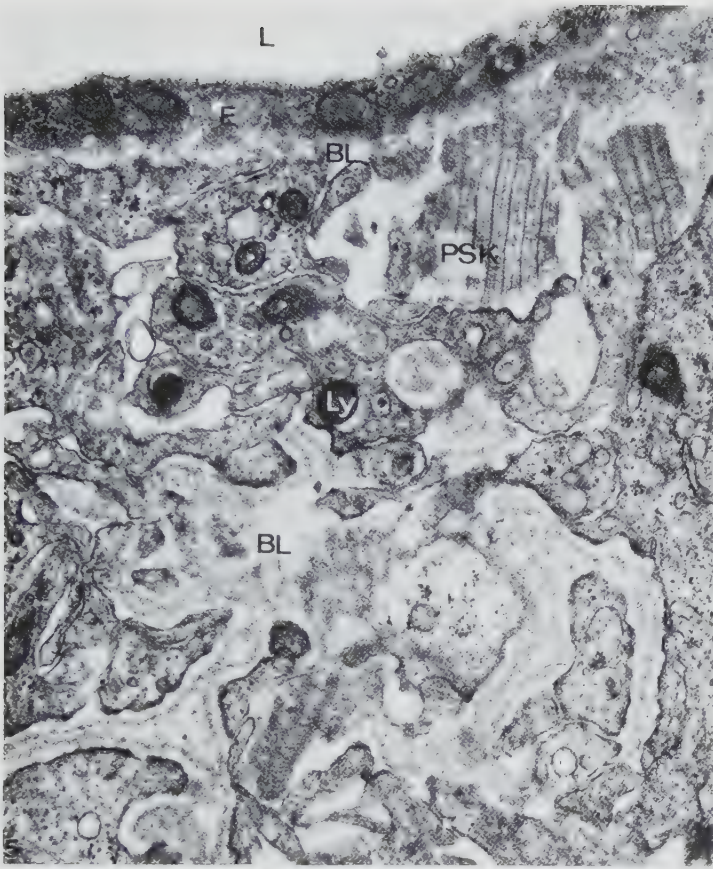


Abb. 5. Labyrinthartige Auffaltungen der Basallamina in der Umgebung einer subcommissuralen Capillare. In Fortsätzen sekretorischer SCO-Zellen Lysosomen (Ly). Kontrastiert. 24000:1

Abb. 6. Aufgeweiteter Perivaskulärraum (PVR) an einer subcommissuralen Capillare (Einzelbefund!). In einer hellen Grundsubstanz Anschnitte von Mikrofilbrillen (F), PSK und ein Ausläufer einer Adventitiazelle (AZ). Kontrastiert. 24000:1

der Capillare wie gegen das umgebende Gewebe abgegrenzt, enthält in einer hellen Grundsubstanz Mikrofibrillen (Durchmesser 400—500 Å), PSK und einen Zellausläufer mit wenig dichtem Cytoplasma und spärlichen Organellen.

Tracerversuche

1. *Verteilung des Tracers in Capillarwand und -umgebung.* Nach intravenöser Injektion von MRP und nachfolgender Perfusionsfixierung in unterschiedlichem Zeitintervall (5, 15 bzw. 30 min) läßt sich durch die histochemische Nachweisreaktion ein elektronendichtes Reaktionsprodukt darstellen, das in unterschiedlichem Ausmaß in Wand und Umgebung der SCO-Capillaren verteilt ist.

Nach 5 min beobachten wir bei allen 8 untersuchten Tieren (6 Sprague-Dawley-, 2 Wistar-Ratten), daß ein Großteil der 400—1400 Å großen Endothelvesikel dunkles Reaktionsprodukt enthält, das in manche netzartig oder wandständig eingelagert ist, die übrigen vollständig erfüllt. Gelegentlich läßt sich Reaktionsprodukt auch in einem kurzen lumenseitigen Abschnitt der endothelialen Interzellularfugen nachweisen. (Erythrocyten, die trotz gründlichererspülung manchmal noch im Capillarlumen liegen, zeigen regelmäßig einen durch die Reaktion stark erhöhten elektronenoptischen Kontrast.)

Bei einem Intervall von 15 bzw. 30 min erhalten wir unterschiedliche Ergebnisse. Bei sämtlichen 4 Wistar-Ratten (2mal 15 min, 2mal 30 min) und 7 von 16 Sprague-Dawley-Ratten (3mal 15 min, 4mal 30 min) ist der Befund gegenüber der 5 min-Gruppe unverändert.

Bei 9 Sprague-Dawley-Ratten (3mal 15 min, 6mal 30 min) hat der Tracer die Endothelbarriere überwunden und verteilt sich in der Capillarumgebung: Wir finden Reaktionsprodukt nicht nur in zahlreichen, unterschiedlich großen Vesikeln im Inneren des Endothels, sondern auch in solchen, die sich zur Basallamina hin entleeren (Abb. 7a). Die stets unverändert schmalen Interzellularfugen enthalten (abgesehen von dem gelegentlichen Befund in einem kurzen lumenseitigen Abschnitt, s.o.) kein Reaktionsprodukt (Abb. 7b). Wir finden reichlich Reaktionsprodukt in Basallamina und PSK, wobei offensichtlich die Reaktion in den PSK besonders stark ausfällt (Abb. 8a). In diesen Körpern findet sich das grobschollige, elektronendichte Material bevorzugt im Bereich der Hauptlinien (Abb. 8b).

Während die bisherigen Feststellungen für sämtliche 9 Tiere übereinstimmend getroffen werden können, sind sie für 4 (1mal 15 min, 3mal 30 min) von ihnen noch zu erweitern: bei diesen ist Reaktionsprodukt auch noch außerhalb der Basallamina und der PSK in den Interzellularspalten der umgebenden Gliazellen bis hin zu den myelinisierten Axonen der hinteren Kommissur anzutreffen. Auch im Cytoplasma von Gliazellen finden wir Vesikel, die mit dunklem Material angefüllt sind (Abb. 9).

Auf eine unterschiedliche Reaktion der beiden Rattenstämme auf MRP-Injektion haben Cotran *et al.* (1967, 1968) hingewiesen. Die Autoren stellten fest, daß bei Sprague-Dawley-Ratten die intradermale, intraperitoneale bzw. intravenöse Injektion von MRP die Gefäßpermeabilität wesentlich erhöht. Da die Untersucher gleichzeitig einen Granulaverlust an den meisten Mastzellen beobachteten, führten sie den Effekt an den Gefäßen auf die Freisetzung von Histamin und Serotonin zurück. Demgegenüber zeigten Wistar-Ratten nie eine erhöhte Gefäßpermeabilität nach parenteraler Zufuhr von MRP. Wenn in den angeführten Untersuchungen *endogen* freigesetztes Histamin bei Sprague-Dawley-Ratten für die vermehrte Gefäßdurchlässigkeit verantwortlich gemacht wurde, lag es nahe, die Wirkung von *exogen* zu-

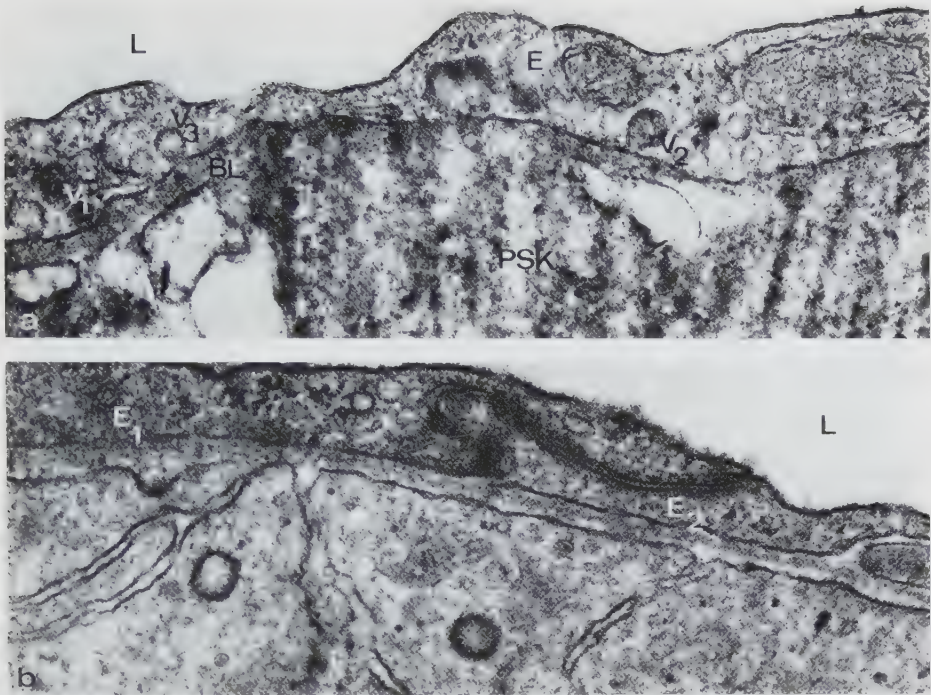


Abb. 7 a u. b. MRP, 30 min; Sprague-Dawley-Ratte. a) Cytopemptischer Transport der MRP in die Gefäßumgebung: V_1 Vesikel mit Reaktionsprodukt; V_2 Vesikel mit Reaktionsprodukt hat über eine Ausstülpung Kontakt zum basalen Plasmalemm; V_3 Vesikel, zur Basallamina hin eröffnet, hat offensichtlich seinen Inhalt dorthin entleert. In Basallamina und PSK Nachweis von grobscholligem Reaktionsprodukt. Kontrastiert. 60000:1; b) Kontaktstelle zweier Endothelzellen (E_1 , E_2). Die Interzellularfuge weist über die gesamte Länge unveränderte Weite auf und enthält kein Reaktionsprodukt. Kontrastiert. 60000:1

geführten Histamin auf die subcommissuralen Capillaren zu prüfen. Wir injizierten Sprague-Dawley-Ratten unmittelbar vor der MRP-Injektion 5 μg bzw. 600 μg Histamin und begannen die Perfusionsfixierung nach unterschiedlichen Zeitintervallen (s. Tabelle 1).

Tabelle 1. Vorbehandlung von Sprague-Dawley-Ratten mit Histamin

Intervall	Zahl der Tiere und Ergebnisse nach	
	5 μg Histamin	600 μg Histamin
5 min	2 —	1 —
15 min	0	1 +, 1 —
30 min	2 —	2 +

— Reaktionsprodukt auf Endothelvesikel beschränkt.

+ Reaktionsprodukt in Endothelvesikeln und zusätzlich in der Gefäßumgebung.

Zu unserer Überraschung ist das Ergebnis, unabhängig von der Histamindosierung, einheitlich. Wiederum ist nach 5 min das Reaktionsprodukt nur auf Vesikel im Endothel beschränkt, nach 15 und 30 min zeigen 3 Tiere unverändert diesen Befund, während bei 3 Tieren der Tracer in die Capillariumgebung gelangt ist. Die endothelialen Interzellularfugen zeigen auch nach exogener Histaminzufuhr unveränderte Weite.

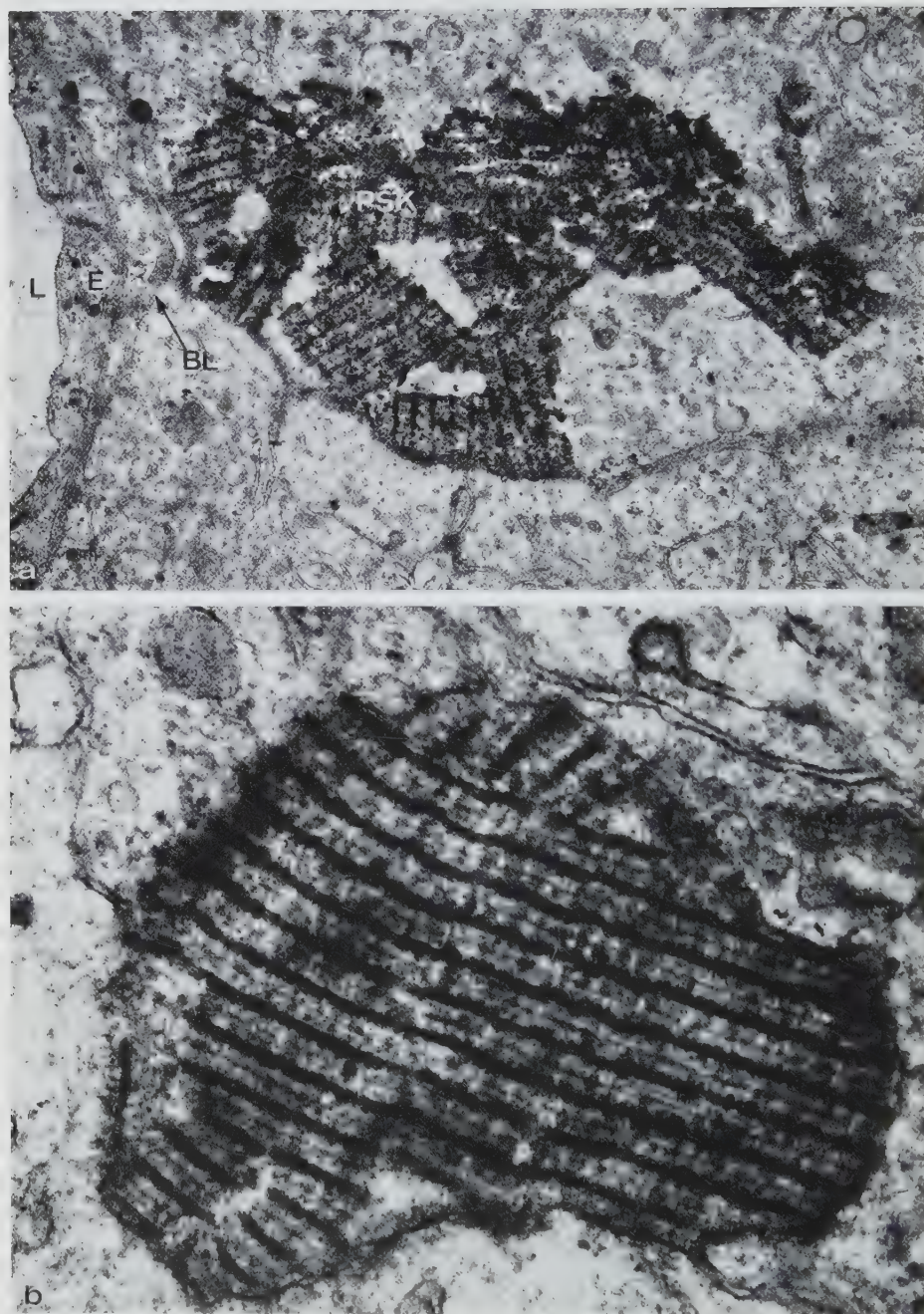


Abb. 8a u. b. MRP, 30 min; Sprague-Dawley-Ratte. a) Anhäufung von Reaktionsprodukt in einem PSK, der gegenüber der Basallamina wesentlich elektronendichter erscheint. Kontrastiert. 24000:1; b) bevorzugte Ablagerung des Reaktionsproduktes im Bereich der Hauptlinien eines PSK. Kontrastiert. 60000:1

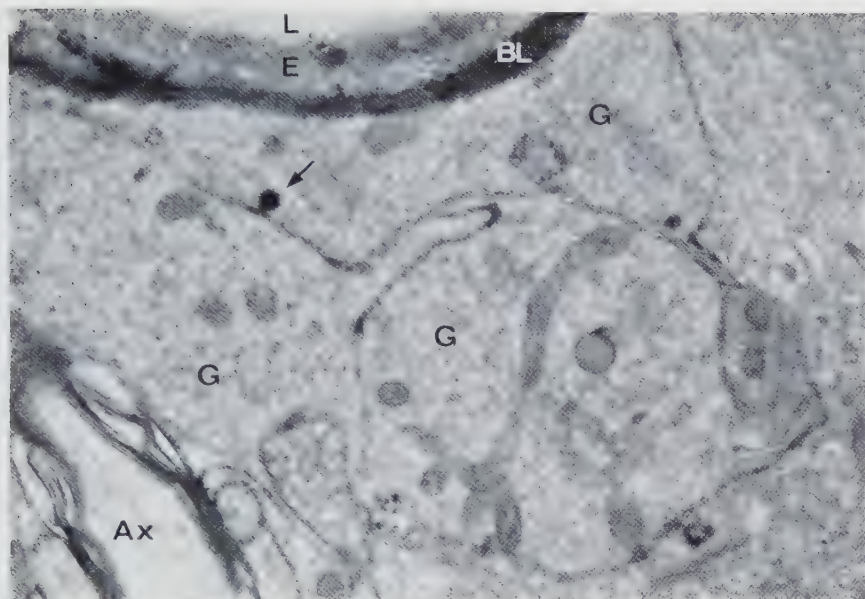


Abb. 9. Histamin, MRP, 30 min; Sprague-Dawley-Ratte. Reaktionsprodukt in Basallamina und Intercellularspalten der umgebenden Gliazellen bis hin zu den myelinisierten Axonen der hinteren Kommissur (Ax). Aufnahme von MRP aus dem Intercellularspalt in Mikropinocytosevesikel einer Gliazelle. Unkontrastiert. 24000:1

2. *Kontrolluntersuchungen.* Wenn wir die Perfusionsfixierung 30 min nach MRP-Injektion beginnen, das Gewebe jedoch in einem Medium ohne Zusatz von H_2O_2 inkubieren, sehen wir zwar zahlreiche Endothelvesikel, einzelne davon zur Basallamina eröffnet, doch immer ohne das dunkle Reaktionsprodukt. Ebenso sind Basallamina, PSK und umgebende Intercellularspalten ausnahmslos frei von dunklem Material.

Bei Inkubation des Gewebes in vollständigem Medium ohne vorhergehende MRP-Injektion zeigen zwar Strukturen mit einer endogenen „peroxidaseähnlichen“ Aktivität, wie z.B. die Erythrocyten, eine deutliche dunkle Anfärbung, im Endothel und den umgebenden Strukturen läßt sich jedoch kein Reaktionsprodukt nachweisen.

Die Untersuchung des Plexus chorioideus bestätigt die Angaben der Literatur (Becker *et al.*, 1967; Brightman, 1968) über die Verteilung intravenös injizierter MRP: das Enzym gelangt durch das gefensterte Capillarendothel in die Basallamina und den perivaskulären Raum; es verteilt sich in den Intercellularspalten des Plexusepithels und wird durch Mikropinocytose in Epithelzellen aufgenommen.

Diskussion

Zur stofflichen Natur und Entstehung der periodisch strukturierten Körper. Das SCO wird von Gefäßen versorgt, die im Hypendym zwischen hinterer Kommissur und Ependym ein Capillarnetz bilden (Duvernoy und Koritké, 1969). Die ein-

gehende elektronenmikroskopische Strukturanalyse dieser Capillaren mit ihrer Umgebung (Wetzstein *et al.*, 1963; Stanka *et al.*, 1964) und ihrer postnatalen Entwicklung (Schwink und Wetzstein, 1966) bei der Ratte brachte eine weitgehende Ähnlichkeit des Wandaufbaus dieser Terminalgefäße mit denen der Großhirnrinde. Die als Besonderheit in der Capillarumgebung des SCO gefundenen PSK wurden damals in ihrem räumlichen Gefüge (Stereologie) analysiert. Lichtmikroskopische und histochemische Befunde stützten die Vermutung, daß die PSK eine ungewöhnliche Anordnung von Kollagenfilamenten darstellen, vergleichbar den in der Literatur beschriebenen (in vivo und in vitro beobachteten) atypischen Kollagenformationen (Lit. s. Wetzstein *et al.*, 1963; Schwink und Wetzstein, 1966).

Diese Vermutung erfährt durch unsere Ergebnisse eine weitere Stützung. Während Mikrofibrillen in unmittelbarer Umgebung der subcommissuralen Capillaren regelmäßig angetroffen werden bei Kaninchen (Schmidt und D'Agostino, 1966), Meerschweinchen (Papacharalampous *et al.*, 1968), Gecko japonicus (Murakami *et al.*, 1969) und menschlichen Embryonen (Møllgård, 1972), zeigen wir, daß solche auch bei der Ratte vorkommen können, und zwar zum Teil in enger Beziehung zu den PSK. Feinstrukturell haben die von uns beobachteten Mikrofibrillen große Ähnlichkeit mit nativem Kollagen. Bekanntlich stellt sich die Periode und deren Unterstruktur bei nativen kollagenen Mikrofibrillen, abhängig von der angewandten Präparationsmethode, variabel dar (u.a. Jakus, 1956). Insbesondere weisen Bouteille und Pease (1971) auf die Einflüsse der Fixierungsmethode ("inert dehydration", Aldehydfixierung) und der Einbettung in vernetzten Epoxy-Kunststoffen hin; nach diesen Autoren verdeckt Epon als hochreaktives und brückenbildendes Einbettungsmedium einen großen Teil der Subperiode.

Zwar finden wir die eben genannten Mikrofibrillen häufig in enger Nachbarschaft zu PSK, doch haben wir nur an wenigen Stellen den Eindruck, daß diese Mikrofibrillen in den Aufbau der PSK einbezogen sind.

Andererseits sind wir der Ansicht, daß die linearen Strukturen, die wir mit der Perjodsäure-Silbermethenamin-Reaktion im Bereich der Basallamina sehen, sehr wohl Bausteine für die PSK darstellen können. Die an ihnen auf ca. 450 Å abgeschätzte Periode entspricht etwa der Hälfte der Hauptlinienabstände der PSK. Auch die auffällige Parallellagerung dieser Strukturen in Registerstellung fügt sich dem früher entworfenen Konzept vom Aufbau der PSK ein. Darüber hinaus erlauben unsere Ergebnisse mit der erwähnten Reaktion eine Aussage zur chemischen Natur dieser linearen Strukturen.

Rambourg und Leblond (1967) erklären zum Ablauf der Reaktion, die von der lichtmikroskopischen PAS-Methode abgeleitet ist, daß Perjodsäure 1,2-Glykol- und Alpha-Amino-Gruppen zu Aldehyd-Gruppen oxidiert; diese Aldehyd-Gruppen reduzieren das in der Silbermethenaminlösung enthaltene Silbertetramin und führen so zum Niederschlag elektronendichter Silbergranula. Die Autoren unterscheiden dabei streng spezifische Niederschläge, die nur nach Oxidation mit Perjodsäure auftreten (z.B. in der glykoproteidhaltigen Basallamina und in der Glykokalyx), vom weniger spezifischen Nachweis solcher Substanzen, die reduzierende Gruppen (z.B. freie Aldehyd-Gruppen) besitzen und somit auch ohne Perjodsäure-Oxidation zu Niederschlägen führen. Dieser Sachverhalt liegt nicht nur bei Nucleinsäuren, Pigmenten und Blutplasma, sondern auch bei kollagenen Mikrofibrillen vor.

Die erwähnten linearen Strukturen stellen sich nach Perjodsäure-Oxidation

(auf unosmierten Schnitten!) deutlich dar, sie sind jedoch auch auf nichtoxidierten Kontrollschnitten nachweisbar. Daher liegt die Folgerung nahe, daß es sich bei ihnen tatsächlich um eine Kollagenformation handelt.

Wir finden demnach in der Capillarumgebung des SCO bei der Ratte einerseits freie kollagene Mikrofibrillen in regelloser Anordnung, andererseits auch — innerhalb der Basallamina und ihrer näheren Umgebung — lineare Strukturen in einem hochgeordneten Verband, deren Kollagenatur immerhin wahrscheinlich ist.

Offenbar ist die spezifische Beschaffenheit der Grundsubstanz, in der sich die filamentären bzw. fibrillären Strukturen formieren, auf deren Gestaltung von wesentlichem Einfluß. So diskutieren v. Bruchhausen und Merker (1967), daß die Dicke der bei der Polymerisation entstehenden kollagenen Mikrofibrillen von der umgebenden Grundsubstanz abhängig sei. Merker und Struwe (1971) stellen fest, daß im Golgi-Apparat von Fibroblasten gebildete Glucosaminpolysaccharide vesikulär in den Extracellulärraum transportiert werden. Unter ihrem steuernden Einfluß werden Polypeptidketten, die vom endoplasmatischen Reticulum der Zellen synthetisiert und eigenständig in den Extracellulärraum abgesondert werden, dort zu kollagenen Mikrofibrillen vereinigt. Ähnliche Modellvorstellungen vertreten Autoren, die annehmen, daß ein Netzwerk hochmolekularer Polysaccharide und Glykoproteide mit unterschiedlicher Ladung in der Grundsubstanz des Interstitiums eine enge Wechselwirkung zu den Kollagenfibrillen unterhält. Offenbar kommt den dabei auftretenden Kräften eine entscheidende Rolle in der individuellen Gestaltung des interstitiellen Materials zu (Lit. s. Laurent, 1972). Andere Untersucher fanden in der Basallamina des Mitteldarms verschiedener Käfer gitterartige Unterstrukturen. Terzakis (1967) deutet diese als ein besonderes Anordnungsmuster von Kollagen und Kohlenhydraten der Grundsubstanz; die letztgenannten hat Holter (1970) als PAS-positiv identifiziert, jedoch keine sauren Mucopolysaccharide nachgewiesen.

Auch wir finden in der Basallamina und den PSK der subcommissuralen Capillaren Glykoproteide, hingegen keine sauren Mucopolysaccharide. Dieses Ergebnis steht allerdings in gewissem Widerspruch zu Angaben von Krstić (1973): Am gleichen Objekt waren seine Versuche mit Alcianblau gleichfalls negativ, mit Rutheniumrot konnte er jedoch saure Mucosubstanzen, wenn auch in sehr geringer Menge, in der Basallamina und (etwas deutlicher) im Bereich der Hauptlinien der PSK nachweisen.

Derzeit verfügen wir noch nicht über weitere elektronenmikroskopisch-histochemische Methoden, mit denen die Grundsubstanz der PSK in ihrer biochemischen Zusammensetzung näher analysiert werden könnte.

Zur Frage der Stoffpassage in den subcommissuralen Capillaren. Permeationsversuche mit Markierungsstoffen wurden an den Capillaren des SCO der Ratte bisher nur lichtmikroskopisch ausgewertet (Wislocki und Leduc, 1952). Die Autoren fanden bei Vitalfärbung mit Trypanblau keine Anfärbung der SCO-Zellen und schlossen daraus, daß in diesem Organ für kolloiddisperse Partikel eine Blut-Hirnschranke besteht. Feinstrukturelle Besonderheiten an den subcommissuralen Terminalgefäßen und ihrer Umgebung (PSK, Basallamina-Labyrinth, kollagene Mikrofibrillen) veranlaßten uns, die Passagebedingungen bei elektronenmikroskopischer Auflösung zu untersuchen.

Für die Wahl von Meerrettichperoxidase als Markierungsstoff waren verschiedene Gründe maßgebend: Seit der Einführung dieses Enzyms (Molekulargewicht ca. 40 000, Moleküldurchmesser ca. 25 Å) als Tracer in die Elektronenmikroskopie durch Graham und Karnovsky (1966) wurde die Frage seiner transendothelialen Passage an Terminalgefäßen zahlreicher Organe untersucht (Lit. s. Karnovsky, 1970). Die verhältnismäßig geringe Partikelgröße des Tracers ermöglicht neben dem transcellulären Transport in cytopemptischen Vesikeln auch eine Passage durch endotheliale Intercellularfugen, sofern diese nicht durch „tight junctions“ verschlossen sind.

Aus Untersuchungen mit MRP am Strombett des Zentralnervensystems geht hervor, daß in solchen Gebieten, in denen eine BHS ausgebildet ist, unter physiologischen Bedingungen ein Übertritt des intravenös zugeführten Tracers aus der terminalen Strombahn in das umliegende Gewebe nicht stattfindet (Reese und Karnovsky, 1967; Bodenheimer und Brightman, 1968; Brightman und Reese, 1969; Brightman *et al.*, 1970b; Weindl und Joynt, 1973). Anders ist die Situation unter experimentellen Bedingungen, die zum Zustand des Hirnödems führen: Injektion toxischer Substanzen (z.B. HgCl_2), Hypoxie, Röntgenbestrahlung, Stichwunden des Cortex, hochdosierte Elektroschocks, experimentelle allergische Encephalomyelitis. In all diesen Fällen tritt MRP aus den typischen Hirncapillaren in die Umgebung aus (Hirano *et al.*, 1969; Brightman *et al.*, 1970a; Hirano *et al.*, 1970).

Hingegen wurde bisher unter physiologischen Bedingungen im Zentralnervensystem eine transendotheliale Passage des Tracers nur in jenen Bezirken beobachtet, die keine BHS besitzen: Plexus chorioideus, Eminentia mediana, Area postrema, Gefäßorgan der Lamina terminalis (Becker *et al.*, 1967; Brightman, 1968; Reese und Brightman, 1968; Hashimoto und Hama, 1968; Weindl und Joynt, 1969).

In unseren Untersuchungen finden wir, daß unter normalen Bedingungen intravenös injizierte MRP, auch bei länger dauernder Zirkulation, nicht aus den subcommissuralen Capillaren in die Gefäßumgebung austritt — es besteht also in diesen Gefäßen eine BHS für Proteine dieser Molekülgröße. Zum selben Ergebnis kommen Weindl und Joynt (1973) bei vergleichbaren Versuchen am SCÖ des Kaninchens. Der Sitz der Barriere ist unzweifelhaft im Bau des Endothels zu suchen: Wie in allen Bezirken des Zentralnervensystems mit einer BHS liegen Capillaren mit einem ungefensterten, vesikelarmen Endothel vor, dessen endotheliale Intercellularfugen durch „tight junctions“ verschlossen sind.

Die „normalen Bedingungen“, unter denen eine BHS für MRP besteht, liegen bei unserem Untersuchungsgut bei sämtlichen Wistar-Ratten und bei 13 von 22 Sprague-Dawley-Ratten vor. Bei den restlichen 9 Sprague-Dawley-Ratten ist die BHS offenbar gestört, denn der Tracer tritt in die Gefäßumgebung aus. Schon die unterschiedliche Reaktion verschiedener Tiere ein und desselben Stammes läßt den Einfluß von Faktoren vermuten, die beim normalen Geschehen nicht wirksam werden. In diesem Sinne spricht die Beobachtung, daß keine der insgesamt 6 Sprague-Dawley-Ratten des Kurzzeitversuches (5 min) eine Capillardurchlässigkeit für MRP aufweist. Eine Beeinträchtigung der Schrankenfunktion durch die fraglichen Faktoren kann demnach vor dieser Zeit nicht eintreten.

Wie bereits auf S. 110 erwähnt, führt die Injektion von MRP bei Sprague-Dawley-Ratten zu einer Degranulation von Mastzellen und damit zur Freisetzung von Histamin und Serotonin. Dadurch wird die Gefäßpermeabilität beträchtlich erhöht. — Eine vergleichbare Reaktion ist nach der Injektion von Thorotrast (Rowley, 1963), von Ovomucoid und von Dextran beschrieben (Lit. bei Giertz und Hahn, 1966). Goth (1959) versucht ihren Mechanismus damit zu erklären, daß Kohlenhydratanteile der zugeführten Substanzen störend in den Zuckerstoffwechsel der Mastzellen eingreifen und so die Freisetzung der biogenen Amine auslösen.

Offenbar bewirkt MRP, deren beträchtliche Beimengungen von Kohlenhydraten bekannt sind (Saunders *et al.*, 1964), eine Schädigung der Mastzellen in ähnlicher Weise (Cotran *et al.*, 1968). Die Vermutung liegt nahe, daß auch in unseren Versuchen bei einem Teil der Tiere über die Schädigung der Mastzellen die Freisetzung der biogenen Amine Histamin und Serotonin eine erhöhte Permeabilität der SCO-Capillaren bewirkt. Allerdings können wir nach intravenöser Histamininjektion keine überzeugenden Ergebnisse im Sinne einer regelmäßig erhöhten Capillarpermeabilität erzielen. Dieser Befund deckt sich jedoch mit den Mitteilungen anderer Autoren (Gabbiani *et al.*, 1970; Wolff, 1973), die nach Histamininjektion im Zentralnervensystem keine Erhöhung der Capillarpermeabilität beobachten konnten. Demzufolge dürfte in unserem Fall die Störung der BHS vorwiegend auf einer Wirkung von freigesetztem Serotonin beruhen. Sparrow und Wilhelm (1957) wiesen nach, daß bei Ratten Serotonin die Regulation der Gefäßpermeabilität 11fach wirksamer beeinflusst als Histamin. Schließlich gibt es im Schrifttum auch die Auffassung, daß auf dem Blutweg zugeführte biogene Amine nie die hohen, für den Effekt an den Blutgefäßen erforderlichen Konzentrationen erreichen, wie sie bei ihrer lokalen Freisetzung durchaus auftreten können (Lit. bei Giertz und Hahn, 1966).

Als morphologische Grundlage der Permeabilitätserhöhung unter Einwirkung von Histamin und Serotonin fanden Majno *et al.* (1961 a, b) in Untersuchungen am M. cremaster der Ratte eine Erweiterung der endothelialen Intercellularfugen (vor allem im Bereich der Venolen), die sie auf eine Kontraktion der Endothelzellen zurückführten (Majno und Leventhal, 1967; Majno *et al.*, 1969). Im Gegensatz dazu weisen die Intercellularfugen des Capillarendothels bei allen von uns untersuchten Tieren unveränderte Weite auf. Die erhöhte Durchlässigkeit der BHS beruht vielmehr auf einem verstärkten transendothelialen Transport des Tracers in cytopemptions Vesikeln, die zum Teil ungewöhnliche Größe besitzen. Diese Art von Permeabilitätserhöhung stellt offensichtlich eine monotone Antwort der Capillaren mit BHS auf verschiedenartige Noxen dar. So stellen alle Untersucher, die durch experimentelle Eingriffe eine erhöhte Durchlässigkeit der BHS erzeugen, eine Zunahme, teilweise auch eine Vergrößerung der Endothelvesikel fest, nur in seltenen Ausnahmefällen jedoch eine Erweiterung der endothelialen Intercellularfugen (Clawson *et al.*, 1966; Chen *et al.*, 1967; Leonhardt, 1967; Hirano *et al.*, 1970; Joó, 1971; Manz und Robertson, 1972; Wolff, 1973).

Sobald die Endothelbarriere der SCO-Capillaren für MRP einmal durchbrochen ist, kann sich der Tracer ungehindert im Interstitium der unmittelbaren Gefäßumgebung verteilen. Basallamina und PSK haben dabei — entgegen den Vermutungen von Schwink und Wetzstein (1966) — offenbar keine spezifische Schranken- oder Verteilerrolle. Die auffällige Anhäufung von Reaktionsprodukt im Bereich der PSK-Hauptlinien sehen wir nicht als Ausdruck einer funktionellen Sonderstellung dieser Strukturen an. Vielmehr könnten günstige sterische Verhältnisse

(großräumige Vernetzung des Polysaccharid-Polypeptid-Netzwerkes) eine Ablagerung des hochmolekularen Enzyms in diesem Bereich begünstigen. Ebenso ist eine gewisse chemische Affinität der MRP zu diesen Stellen in Betracht zu ziehen, entfernt vergleichbar der Beobachtung von Krstić (1973), daß Lanthannitrat bevorzugt im Bereich der Hauptlinien der PSK eingelagert wird. Gegen eine Barrierenfunktion der Basallamina und der PSK sprechen weiterhin die Befunde an jenen 4 Sprague-Dawley-Ratten, bei denen der Tracer auch in die Intercellularspalten der benachbarten Gliazellen ungehindert eindringt und von diesen Zellen durch Mikropinocytose aufgenommen wird. Brightman *et al.* (1970 a) ordnen diesen Verteilungstyp des Tracers dem Hirnödem nach vasogener Schädigung der BHS zu. Sie trennen dieses Bild streng von dem durch Hypoxie hervorgerufenen „cytotoxischen“ Hirnödem, bei dem nur eine geringgradige Störung der Schrankenfunktion vorliegen soll und der Tracer ausschließlich in neuronalen Zellelementen gefunden wird.

Noch offen ist zunächst die Frage, warum nur ein Teil der Sprague-Dawley-Ratten im 15- bzw. 30-min-Versuch mit Durchlässigkeit der Capillaren für den Tracer reagiert. Wenn wir annehmen, daß eine Kohlenhydratbeimengung der MRP als makromolekularer Liberator von biogenen Aminen fungiert, so können wir nur vermuten, daß deren Menge nahe bei der Schwellendosis liegt. Setzt man individuelle Unterschiede der einzelnen Tiere bezüglich ihrer Empfindlichkeit für den Liberator in Rechnung, so könnte im einen Fall die Schwelle überschritten, im anderen Fall unterschritten sein. Ferner sind auch individuelle Unterschiede im aktuellen Umfang des Depots an biogenen Aminen in Betracht zu ziehen, wie auch solche in der Receptoreigenschaft des Gefäßendothels für den „BHS-störenden“ Effekt der Amine.

Schlußbemerkung. Unsere Untersuchungen zeigen, daß unter physiologischen Bedingungen im SCO der Ratte die Passage hochmolekularer Substanzen aus der Blutbahn in das umliegende Gewebe durch eine Barriere verhindert wird, die im Capillarendothel lokalisiert ist. Über die Permeation niedermolekularer Stoffe und eine mögliche Rolle der PSK für deren Austausch können wir keine Aussage machen. Ebenso ist noch nicht geklärt, ob die zwischen SCO-Zellen und Capillaren eingefügten PSK für eine basale Sekretion jener Zellen in die Blutbahn, wie sie für verschiedene andere Tierspezies (u.a. Kaninchen, Gecko japonicus) diskutiert wird, von Bedeutung sind. Dieser Gedanke verdient im Lichte jüngster Befunde Beachtung. In histochemischen Untersuchungen der prä- und postnatalen Entwicklung des SCO der Ratte finden Köhl und Linderer (1973) ab dem 10. Lebenstag eine auffallende Zunahme anfärbbaren Sekrets in den Hypendymzellen (Chromalaun-Gallocyaninfärbung). Zum gleichen Zeitpunkt stellen Schwink und Wetzstein (1966) den Beginn einer stetigen Zunahme der mit PSK versehenen Capillaren fest. Das zeitliche Zusammentreffen der beiden Sachverhalte im identischen Bereich des Organs muß überraschen. Unter verschiedenen Möglichkeiten der gedanklichen Verknüpfung beider Gegebenheiten stellen wir diese zur Diskussion: Möglicherweise induziert das vermehrt auftretende Sekret der Hypendymzellen die Bildung der periodisch strukturierten Körper, die ihrerseits im extracellulären Bereich Einfluß auf den Weg des Sekrets in die Blutbahn nehmen.

Literatur

- Andres, K. H.: Der Feinbau des Subfornikalorgans vom Hund. *Z. Zellforsch.* **68**, 445—473 (1965)
- Becker, N. H., Novikoff, A. B., Zimmermann, H. M.: Fine structure observations of the uptake of intravenously injected peroxidase by the rat choroid plexus. *J. Histochem. Cytochem.* **15**, 160—165 (1967)
- Behnke, O., Zelander, T.: Preservation of intercellular substances by the cationic dye alcian blue in preparative procedures for electron microscopy. *J. Ultrastruct. Res.* **31**, 424—438 (1970)
- Bodenheimer, T. S., Brightman, M. W.: A blood-brain barrier to peroxidase in capillaries surrounded by perivascular spaces. *Amer. J. Anat.* **122**, 249—268 (1968)
- Bohman, S. O., Maunsbach, A. B.: Effects on tissue fine structure of variations in colloid osmotic pressure of glutaraldehyde fixatives. *J. Ultrastruct. Res.* **30**, 195—208 (1970)
- Bomhard, K. von, Köhl, W., Schinko, I.: Gefäßpassage von Markierungstoffen im Subcommissuralorgan der Ratte. *Verh. Anat. Ges.*, 68. Vers. Lausanne 1973. *Anat. Anz., Erg.-H.* (im Druck)
- Booz, K. H., Desaga, U., Felsing, T., Franz, H., Stark, M.: Sub- und interependymale Basalmembranlabyrinth am Zentralkanal der weißen Ratte. *Z. Zellforsch.* **132**, 217—229 (1972)
- Bouteille, M., Pease, D. C.: The tridimensional structure of native collagenous fibrils, their proteinaceous filaments. *J. Ultrastruct. Res.* **35**, 314—338 (1971)
- Breemen, V. L. van, Clemente, C. D.: Silver deposition in the central nervous system and the hematoencephalic barrier studied with the electron microscope. *J. biophys. biochem. Cytol.* **1**, 161—166 (1955)
- Brightman, M. W.: The intracerebral movement of proteins injected into blood and cerebrospinal fluid of mice. *Progr. Brain Res.* **29**, 19—37 (1968)
- Brightman, M. W., Klatzo, I., Olsson, Y., Reese, T. S.: The blood-brain barrier to proteins under normal and pathological conditions. *J. neurol. Sci.* **10**, 215—239 (1970a)
- Brightman, M. W., Reese, T. S.: Junctions between intimately apposed cell membranes in the vertebrate brain. *J. Cell Biol.* **40**, 648—677 (1969)
- Brightman, M. W., Reese, T. S., Feder, N.: Assessment with the electron microscope of the permeability to peroxidase of cerebral endothelium and epithelium in mice and sharks. In: *Capillary permeability (Alfred Benzon Symposium II)* (C. Crone, N. A. Lassen, eds.), p. 468—476. New York: Acad. Press 1970b
- Bruchhausen, F. von, Merker, H.-J.: Morphologischer und chemischer Aufbau isolierter Basalmembranen aus der Nierenrinde der Ratte. *Histochemie* **8**, 90—108 (1967)
- Chen, H.-C., Lin, C.-S., Lien, I.-N.: Vascular permeability in experimental kernicterus. An electron microscopic study of the blood-brain barrier. *Amer. J. Path.* **51**, 69—87 (1967)
- Clawson, C. C., Hartmann, J. F., Vernier, R. L.: Electron microscopy of the effect of gram negative endotoxin on the blood-brain barrier. *J. comp. Neurol.* **127**, 183—198 (1966)
- Cotran, R. S., Karnovsky, M. J.: Vascular leakage induced by horseradish peroxidase in the rat. *Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.)* **126**, 557—561 (1967)
- Cotran, R. S., Karnovsky, M. J., Goth, A.: Resistance of Wistar/Furth rats to the mast cell-damaging effect of horseradish peroxidase. *J. Histochem. Cytochem.* **16**, 382—383 (1968)
- Dempsey, E. W.: Fine-structure of the rat's intercolumnar tubercle and its adjacent ependyma and choroid plexus, with especial reference to the appearance of its sinusoidal vessels in experimental argyria. *Exp. Neurol.* **22**, 568—589 (1968)
- Dempsey, E. W., Wislocki, G. B.: An electron microscopic study of the blood-brain barrier in the rat, employing silver nitrate as a vital stain. *J. biophys. biochem. Cytol.* **1**, 245—256 (1955)
- Dretzki, J.: Licht- und elektronenmikroskopische Untersuchungen zum Problem der Blut-Hirn-Schranke circumventrikulärer Organe der Ratte nach der Behandlung mit Myofer. *Z. Anat. Entwickl.-Gesch.* **134**, 278—297 (1971)
- Duvernoy, H., Koritké, J. G.: The vascular architecture of the subcommissural organ. In: *Zirkumventrikuläre Organe und Liquor. Bericht über das Symposium in Schloß Reinhardsbrunn vom 13.—16. Mai 1968*, S. 41—43. Jena: VEB G. Fischer 1969
- Farquhar, M. G., Palade, G. E.: Cell junctions in amphibian skin. *J. Cell Biol.* **26**, 263 (1965)

- Gabbiani, G., Badonnel, M. C., Majno, G.: Intraarterial injections of histamine, serotonin, or bradykinin: a topographic study of vascular leakage. *Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.)* **135**, 447—452 (1970)
- Giertz, H., Hahn, F.: Die anaphylaktoide Reaktion der weißen Ratte. In: *Handbuch der experimentellen Pharmakologie*, Bd. 18/1 (Hrsg. O. Eichler u. A. Farah), S. 481—511. Berlin-Heidelberg-New York: Springer 1966
- Goth, A.: Inhibition of anaphylactoid edema in the rat by 2-deoxy-glucose. *Amer. J. Physiol.* **197**, 1056—1058 (1959)
- Graham, R. C., Karnovsky, M. J.: The early stages of absorption of injected horseradish peroxidase in the proximal tubules of mouse kidney; ultrastructural cytochemistry by a new technique. *J. Histochem. Cytochem.* **14**, 291—302 (1966)
- Hashimoto, P. H., Hama, K.: An electron microscope study on protein uptake into brain regions devoid of the blood-brain barrier. *Med. J. Osaka Univ.* **18**, 331—346 (1968)
- Hirano, A., Becker, N. H., Zimmermann, H. M.: Pathological alterations in the cerebral endothelial cell barrier to peroxidase. *Arch. Neurol. (Chic.)* **20**, 300—308 (1969)
- Hirano, A., Becker, N. H., Zimmermann, H. M.: The use of peroxidase as a tracer in studies of alterations in the blood-brain barrier. *J. neurol. Sci.* **10**, 205—213 (1970)
- Holter, P.: Regular grid-like substructures in the midgut epithelial basement membrane of some coleoptera. *Z. Zellforsch.* **110**, 373—385 (1970)
- Jakus, M.: Studies on the cornea. II. The fine structure of Descemet's membrane. *J. biophys. biochem. Cytol.* **2** (Suppl.), 243—252 (1956)
- Jóó, F.: Increased production of coated vesicles in the brain capillaries during enhanced permeability of the blood-brain barrier. *Brit. J. exp. Path.* **52**, 646—649 (1971)
- Karnovsky, M. J.: Morphology of capillaries with special reference to muscle capillaries. In: *Capillary permeability (Alfred Benzon Symposium II)* (C. Crone, N. A. Lassen, eds.), p. 343—350. New York: Acad. Press 1970
- Köhl, W., Linderer, Th.: Zur Entwicklung des Subcommissuralorgans der Ratte. Morphologische und histochemische Untersuchungen. *Histochemie* **33**, 349—368 (1973)
- Krstić, R.: Ultrastrukturelle Lokalisation von Mukosubstanzen der Zellhülle im Subcommissuralorgan der Ratte. *Z. Zellforsch.* **139**, 237—252 (1973)
- Largiadèr, F.: The transplant. In: *Organ transplantation* (ed. F. Largiadèr), p. 154. Stuttgart: Thieme 1970
- Laurent, T. C.: The ultrastructure and physical-chemical properties of interstitial connective tissue. *Pflügers Arch.* **336**, (Suppl.), S 21—S 42 (1972)
- Leonhardt, H.: Über die Blutkapillaren und perivaskulären Strukturen der Area postrema des Kaninchens und über ihr Verhalten im Pentamethylenetetrazol-(Cardiazol-) Krampf. *Z. Zellforsch.* **76**, 511—524 (1967)
- Leonhardt, H.: Über Hirnödeme bei unterschiedlichen perikapillären Strukturen verschiedener Grisea des Kaninchens, hervorgerufen durch Pentamethylenetetrazol (Cardiazol). *Z. Zellforsch.* **84**, 199—218 (1968)
- Luft, J. H.: Improvements in epoxy resin embedding methods. *J. biophys. biochem. Cytol.* **9**, 409—414 (1961)
- Luft, J. H.: Ruthenium red and violet. I. Chemistry, purification, methods of use for electron microscopy and mechanism of action. *Anat. Rec.* **171**, 348—368 (1971a)
- Luft, J. H.: Ruthenium red and violet. II. Fine structural localization in animal tissues. *Anat. Rec.* **171**, 369—416 (1971b)
- Majno, G., Leventhal, M.: Pathogenesis of histamine-type vascular leakage. *Lancet* 1967 II, 99
- Majno, G., Palade, G. E.: Studies on inflammation: I. The effect of histamine and serotonin on vascular permeability: an electron microscopic study. *J. biophys. biochem. Cytol.* **11**, 571—605 (1961a)
- Majno, G., Palade, G. E., Schoeffl, G. I.: Studies on inflammation. II. The site of action of histamine and serotonin along the vascular tree: a topographic study. *J. biophys. biochem. Cytol.* **11**, 607—626 (1961b)
- Majno, G., Shea, S. M., Leventhal, M.: Endothelial contraction induced by histamine-type mediators. *J. Cell Biol.* **42**, 647—672 (1969)

- Manz, H. J., Robertson, D. M.: Vascular permeability to horseradish peroxidase in brain stem lesions of thiamine-deficient rats. *Amer. J. Path.* **66**, 565—572 (1972)
- Merker, H. J., Struwe, K.: Elektronenmikroskopische Untersuchungen zum Problem der Sekretion der bindegewebigen Interzellulärsubstanz. *Z. Zellforsch.* **115**, 212—225 (1971)
- Møllgård, K.: Histochemical investigations on the human foetal subcommissural organ. I. Carbohydrates and mucosubstances, proteins and nucleoproteins, esterase, acid and alkaline phosphatase. *Histochemie* **32**, 31—48 (1972)
- Murakami, M., Nakayama, N., Tanaka, H.: Fine structure of the perivascular space of the Gecko japonicus subcommissural organ. *Experientia* (Basel) **25**, 522—523 (1969)
- Papacharalampous, N. X., Schwink, A., Wetzstein, R.: Elektronenmikroskopische Untersuchungen am Subcommissuralorgan des Meerschweinchens. *Z. Zellforsch.* **90**, 202—229 (1968)
- Rambourg, A.: An improved silver methenamine technique for the detection of periodic acid-reactive complex carbohydrates with the electron microscope. *J. Histochem. Cytochem.* **15**, 409—412 (1967)
- Rambourg, A., Leblond, C. P.: Electron microscope observations on the carbohydrate-rich cell coat present at the surface of cells in the rat. *J. Cell Biol.* **32**, 27—53 (1967)
- Reese, T. S., Brightman, M. W.: Similarity in structure and permeability to peroxidase of epithelia overlying fenestrated cerebral capillaries. *Anat. Rec.* **160**, 414 (Abstr.) (1968)
- Reese, T. S., Karnovsky, M. J.: Fine structural localization of a blood-brain barrier to exogenous peroxidase. *J. Cell Biol.* **34**, 207—217 (1967)
- Reynolds, E. S.: The use of lead citrate at high pH as an electron-opaque stain in electron microscopy. *J. Cell Biol.* **17**, 208—212 (1963)
- Rohr, V. U.: Zum Feinbau des Subfornical-Organ der Katze. I. Der Gefäß-Apparat. *Z. Zellforsch.* **73**, 246—271 (1966)
- Rowley, D. A.: Mast cell damage and vascular injury in the rat: an electron microscopic study of a reaction produced by thorotrast. *Brit. J. exp. Path.* **44**, 284—290 (1963)
- Rudert, H., Schwink, A., Wetzstein, R.: Die Feinstruktur des Subfornikalorgans beim Kaninchen. I. Die Blutgefäße. *Z. Zellforsch.* **74**, 252—270 (1966)
- Saunders, B. C.: Peroxidase. London: Butterworths 1964
- Schinko, I., Rohrschneider, I., Wetzstein, R.: Elektronenmikroskopische Untersuchungen am Subfornikalorgan der Maus. *Z. Zellforsch.* **123**, 277—294 (1972)
- Schmidt, W. R., D'Agostino, A. N.: The subcommissural organ of the adult rabbit. *Neurology* (Minneapolis) **16**, 373—379 (1966)
- Schwink, A., Wetzstein, R.: Die Capillaren im Subcommissuralorgan der Ratte. Elektronenmikroskopische Untersuchungen an Tieren verschiedenen Lebensalters. *Z. Zellforsch.* **73**, 56—88 (1966)
- Sparrow, E. M., Wilhelm, D. L.: Species differences in susceptibility to capillary permeability factors: histamine, 5-hydroxytryptamine and compound 48/80. *J. Physiol. (Lond.)* **137**, 51—65 (1957)
- Stanka, P., Schwink, A., Wetzstein, R.: Elektronenmikroskopische Untersuchung des Subcommissuralorgans der Ratte. *Z. Zellforsch.* **63**, 277—301 (1964)
- Terzakakis, J. A.: Substructure in an epithelial basal lamina. *J. Cell Biol.* **35**, 237—278 (1967)
- Weindl, A.: Verhalten der circumventriculären Organe des Kaninchens nach intravenöser Trypanblaufuhr. *Naturwissenschaften* **54**, 342 (1967)
- Weindl, A., Joynt, R. J.: Electron microscopic observations on the organum vasculosum of the lamina terminalis (OVLT) after intravenous injection of horseradish peroxidase. *Neurology* (Minneapolis) **13**, 295 (1969)
- Weindl, A., Joynt, R. J.: Barrier properties of the subcommissural organ. *Arch. Neurol. (Chic.)* **29**, 16—22 (1973)
- Wetzstein, R., Schwink, A., Stanka, P.: Die periodisch strukturierten Körper im Subcommissuralorgan der Ratte. *Z. Zellforsch.* **61**, 493—523 (1963)

- Wislocki, G. B., King, L. S.: The permeability of hypophysis and hypothalamus to vital dyes, with a study of the hypophyseal vascular supply. *Amer. J. Anat.* **58**, 421—472 (1936)
- Wislocki, G. B., Leduc, E. H.: The cytology and histochemistry of the subcommissural organ and Reissner's fiber in rodents. *J. comp. Neurol.* **97**, 515—543 (1952)
- Wolff, J.: Persönliche Mitteilung, 1973

Dr. med. Klaus von Bomhard
Institut für Histologie und experimentelle
Biologie der Universität
D-8000 München 2
Pettenkoferstraße 11
Bundesrepublik Deutschland

LEBENSIAUF

des

Klaus, Hans, Robert v. Bomhard
geb. am 24. Juni 1947 in München

Sohn des

Dr. Ing. Franz-Josef v. Bomhard
geb. am 4. August 1917 in München

und der

Marianne v. Bomhard, geb. Doerfler
geb. am 5. Mai 1927 in München

1947	geboren in München
1953 - 1955	Besuch der Volksschule in München
1955 - 1957	Besuch der Volksschule in Schweinfurt
1957 - 1966	Besuch des Humanistischen Gymnasiums in Schweinfurt
1966 - 1970	Beginn des Medizinstudiums in Würzburg
1970 - 1972	Fortsetzung des Medizinstudiums in München
1972	Medizinisches Staatsexamen in München
Okt. 72 - Febr. 73	Stipendiat nach dem Graduiertenförde- rungsgesetz am Institut für Histologie und experimentelle Biologie der Univer- sität München
März 73 - Juni 73	Medizinalassistent in der III. Med. Ab- teilung des Städt. Krankenhauses Mün- chen-Schwabing
Juli 73 - Aug. 73	Stipendiat nach dem Graduiertenförde- rungsgesetz am Institut für Histologie und experimentelle Biologie der Univer- sität München
Sept. 73 - Dez. 73	Medizinalassistent in der I. Chirurg. Abteilung des Städt. Krankenhauses Am Urban, Berlin
seit April 74	Assistenzarzt in der Landesnervenklinik Berlin-Spandau

